

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 649 732**

51 Int. Cl.:

C07C 233/58 (2006.01)
C07C 233/59 (2006.01)
C07C 233/60 (2006.01)
C07D 307/30 (2006.01)
C07D 333/38 (2006.01)
C07D 333/58 (2006.01)
A61K 31/167 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.07.2011 E 15183290 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2017 EP 2966058**

54 Título: **Nuevas sales de calcio de compuesto como agentes antiinflamatorios, inmunomoduladores y antiproliferativos**

30 Prioridad:

01.07.2010 US 360670 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.01.2018

73 Titular/es:

**4SC AG (100.0%)
Am Klopferspitz 19 a
82152 Planegg - Martinsried, DE**

72 Inventor/es:

**AMMENDOLA, ALDO;
DIEDERICHS, JULIA;
LEBAN, JOHANN y
VITT, DANIEL**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 649 732 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Nuevas sales de calcio de compuesto como agentes antiinflamatorios, inmunomoduladores y antiproliferativos

5 La presente invención se refiere a nuevas sales de calcio de compuestos que se pueden utilizar como agentes antiinflamatorios, inmunomoduladores y antiproliferativos. En particular, la invención se refiere a nuevas sales de calcio de compuestos que inhiben dihidroorotato deshidrogenasa (DHODH), a un procedimiento para su fabricación, a composiciones farmacéuticas que los contienen, y a su utilización para el tratamiento y la prevención de enfermedades, en particular su utilización en enfermedades en las que es ventajosa la inhibición de dihidroorotato deshidrogenasa (DHODH).
10

La artritis reumatoide (RA) es una enfermedad que es bastante común, especialmente entre personas ancianas. Su tratamiento con medicaciones usuales, como por ejemplo agentes antiinflamatorios no esteroideos, no es satisfactorio. Debido al envejecimiento cada vez mayor de la población, especialmente en los países occidentales desarrollados y en Japón, se requiere urgentemente el desarrollo de nuevas medicaciones para el tratamiento de RA.
15

El documento WO 2003/006425 describe ciertos compuestos específicos que se informa que son útiles para el tratamiento y prevención de enfermedades en las que es ventajosa la inhibición de dihidroorotato deshidrogenasa (DHODH). Sin embargo, no se describen las sales específicas según la presente invención.
20

Los documentos WO 99/38846 y EP 0646578 describen compuestos de los que se informa que son útiles para el tratamiento de RA.

25 Recientemente se ha comercializado por la compañía Aventis un medicamento contra la artritis reumatoide con un nuevo mecanismo de acción, leflunomida, con el nombre comercial ARAVA [documentos EP 780128, WO 97/34600]. La leflunomida tiene propiedades inmunomoduladoras así como antiinflamatorias [documentos EP 217206, DE 2524929]. El mecanismo de acción se basa en la inhibición de dihidroorotato deshidrogenasa (DHODH), una enzima de la biosíntesis de pirimidinas.
30

De Julian-Ortiz (J. Med. Chem. 1999, 42, 3308-3314) describe ciertos compuestos potenciales contra el herpes con restos de ácido ciclopentenoico.

35 El documento DE 3346814 A1 describe ciertos derivados de amidas de ácido carbónico para el tratamiento, prevención, y mejora de enfermedades relacionadas con disfunción cerebral, y los síntomas causados de ese modo.

En el cuerpo, DHODH cataliza la síntesis de pirimidinas, que son necesarias para el crecimiento celular. Una inhibición de DHODH inhibe el crecimiento de células que proliferan (patológicamente) rápido, mientras que las células que crecen a velocidad normal pueden obtener sus bases pirimidínicas requeridas a partir del ciclo metabólico normal. Los tipos más importantes de células para la respuesta inmune, los linfocitos, usan exclusivamente la síntesis de pirimidinas para su crecimiento, y reaccionan particularmente de forma sensible a la inhibición de DHODH. Las sustancias que inhiben el crecimiento de linfocitos son medicamentos importantes para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias.
40

45 El inhibidor de DHODH leflunomida (ARAVA) es el primer medicamento de esta clase de compuestos (leflunomidas) para el tratamiento de artritis reumatoide. El documento WO 99/45926 es una referencia adicional que describe compuestos que actúan como inhibidores de DHODH.

50 El documento JP-A-50-121428 describe monoamidas del ácido ciclopenteno-1,2-dicarboxílico N-sustituidas como herbicidas, y su síntesis. Por ejemplo, la monoamida del ácido N-{4-clorofenil}-1-ciclopenteno-1,2-dicarboxílico se produce haciendo reaccionar anhídrido 1-ciclopenteno-1,2-dicarboxílico con 4-cloroanilina.

En el Journal of Med. Chemistry, 1999, Vol. 42, páginas 3308-3314, se describen síntesis combinatorias virtuales y el cribado computacional de nuevos compuestos potenciales contra el herpes. En la Tabla 3, en la página 3313, se presentan los resultados experimentales con respecto a IC₅₀ y a la citotoxicidad para ácido 2-(2,3-difluorofenilcarbamoil)-1-ciclopenteno-1-carboxílico, ácido 2-(2,6-difluorofenilcarbamoil)-1-ciclopenteno-1-carboxílico y ácido 2-(2,3,4-trifluorofenil-carbamoil)-1-ciclopenteno-1-carboxílico.
55

60 Los documentos DE 3346814 y US 4661630 describen amidas del ácido carboxílico. Estos compuestos son útiles para enfermedades acompañadas con disfunción cerebral, y también tienen actividades antiúlceras, antiasma, antiinflamatoria e hipocolesterolemica.

En los documentos EP 0097056, JP 55157547, DE 2851379 y DE 2921002, se describen derivados del ácido tetrahidroftalámico.
65

Es un objetivo de la presente invención proporcionar agentes eficaces alternativos, específicamente en forma de sus sales de calcio, que se pueden usar para el tratamiento de enfermedades que requieren la inhibición de DHODH.

Particularmente, se ha encontrado previamente que compuestos de la fórmula general (I) mostrada en la presente memoria a continuación, tales como ácido 2-(3-fluoro-3'-metoxi-bifenil-4-ilcarbamoil)-ciclopent-1-enocarboxílico (INN Vidofludimus), muestran buena actividad antiinflamatoria, y se ha apuntado su utilización en la terapia oral para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias tales como, por ejemplo, artritis reumatoide o enfermedades inflamatorias del intestino. Sin embargo, la solubilidad de los compuestos mencionados anteriormente en medios acuosos es menor que 1 mg/ml a pH neutro.

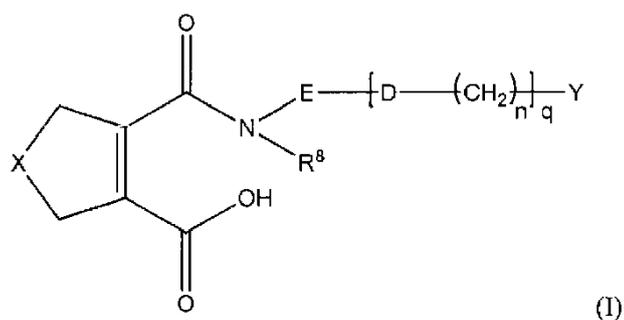
La solubilidad de un compuesto es una característica importante en el descubrimiento de un fármaco, ya que sirve como punto de partida para el desarrollo de una formulación. Además, tras la administración oral, la resorción de un fármaco desde los intestinos a la circulación depende por lo menos en parte de su solubilidad. Solamente se pueden resorber sustancias disueltas, de manera que se puede esperar que un incremento en la solubilidad dé como resultado una mejor captación de un compuesto en el tubo digestivo, es decir, una mejor biodisponibilidad oral, y por tanto propiedades farmacocinéticas mejoradas. Es deseable proporcionar compuestos que tengan biodisponibilidad potenciada a fin de mejorar su utilización como compuesto farmacéutico para aplicación oral.

Por lo tanto, en el contexto de la presente invención se han realizado esfuerzos para incrementar la solubilidad de los compuestos en medios acuosos, y en consecuencia su biodisponibilidad. Con esta motivación, se llevó a cabo un estudio para desarrollar una nueva forma salina de los compuestos, dando como resultado sales que muestran inesperadamente propiedades fisicoquímicas significativamente mejoradas.

Se ha descubierto que las sales de calcio de compuestos de fórmula (I) como se describe en la presente memoria a continuación, tal como la sal de calcio de ácido 2-(3-fluoro-3'-metoxi-bifenil-4-ilcarbamoil)-ciclopent-1-enocarboxílico, muestran propiedades fisicoquímicas favorables, tal como una solubilidad acuosa mejorada, a la vez que mantienen una buena estabilidad a largo plazo. Además, se descubrió que no todas las sales del compuesto generalmente incrementan la solubilidad acuosa en el mismo grado; de hecho, aunque las solubilidades de las sales ensayadas son todas mayores que para el ácido libre, difieren significativamente entre sí. De forma más importante, la sal de calcio muestra sorprendentemente una biodisponibilidad notablemente incrementada, en comparación con otras sales o con el ácido libre.

En consecuencia, se descubrió una nueva clase de sales de calcio de compuestos con un efecto inhibidor de DHODH, en particular DHODH humana.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a las sales de calcio de compuestos de la fórmula general (I)



en la que

X se selecciona de entre el grupo que consiste en CH₂, S, u O;

D es O o S;

R⁸ es hidrógeno o alquilo, preferentemente hidrógeno o metilo;

E es un grupo fenileno opcionalmente sustituido;

Y es un sistema de anillo de 6-9 miembros monocíclico o bicíclico, sustituido o no sustituido, que puede contener uno o más heteroátomos seleccionados de N o S, y que contiene por lo menos un anillo aromático; preferentemente, Y es fenilo sustituido o no sustituido;

n es 0 o 1, preferentemente 0; y

q es 0 o 1, preferentemente 0;

con la condición de que se excluyan los compuestos en los que $q = 0$, Y = fenilo no sustituido, y E = fenileno no sustituido;

5 o un hidrato de los mismos.

E es preferentemente un grupo fenileno no sustituido, o un grupo fenileno que está sustituido con uno o más grupos seleccionados independientemente de halógeno, nitro o alcoxi; más preferentemente, E es un grupo fenileno que está sustituido con un átomo de flúor o cloro, un grupo metoxi o con cuatro átomos de flúor. Incluso más preferentemente, E es un grupo fenileno que está sustituido con uno o cuatro átomos de flúor, aún incluso más preferentemente un átomo de flúor.

Y es preferentemente un fenilo, piridina o benzotiofeno opcionalmente sustituido. Más preferentemente, Y es un grupo fenilo no sustituido, o un grupo fenilo que está sustituido con uno o más grupos seleccionados independientemente de halógeno, alquilo, alcoxi, haloalcoxi, haloalquilo o CN. Incluso más preferentemente, E es un grupo fenilo que está sustituido con uno o más grupos seleccionados independientemente de flúor, cloro, CN, metoxi, etoxi, trifluorometilo o trifluorometoxi. Aún incluso más preferentemente, E es un grupo fenilo que está sustituido con uno o más grupos seleccionados independientemente de metoxi o trifluorometoxi, aún incluso más preferentemente metoxi.

Un grupo alquilo, si no se señala de otro modo, es preferentemente una cadena lineal o ramificada saturada de 1 a 6 átomos de carbono, preferentemente un grupo metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, *t*-butilo, isobutilo, pentilo o hexilo, siendo más preferido un grupo metilo, etilo, isopropilo o *t*-butilo, siendo incluso más preferido un grupo metilo o etilo, siendo aún incluso más preferido un grupo metilo.

Un grupo alcoxi representa un grupo O-alquilo, siendo el grupo alquilo como se define anteriormente.

Un grupo haloalquilo representa un grupo alquilo que está sustituido con uno o más átomos de halógeno, siendo el grupo alquilo como se define anteriormente; prefiriéndose un trifluorometilo.

Un grupo haloalquiloxi representa un grupo alcoxi que está sustituido con uno o más átomos de halógeno, siendo el grupo alcoxi como se define anteriormente; prefiriéndose OCF_3 .

Halógeno es preferentemente cloro, bromo, flúor o yodo, siendo preferido flúor, cloro o bromo, siendo más preferido flúor.

La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende las sales cálcicas de los compuestos de fórmula (I) como se describe anteriormente, junto con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para las mismas.

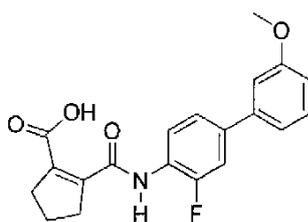
En otro aspecto, la presente invención también proporciona un método para el tratamiento o profilaxis de una afección en la que es ventajosa la inhibición de dihidroorotato deshidrogenasa (DHODH), que comprende la administración de una cantidad eficaz de una sal de calcio de los compuestos de fórmula (I) como se describe anteriormente.

La invención también se refiere a la utilización de una sal de calcio de los compuestos de fórmula (I) como se describe anteriormente, para la producción de un medicamento para la prevención y tratamiento de enfermedades, en las que es beneficiosa la inhibición de la biosíntesis de pirimidinas.

La presente invención también engloba hidratos de las sales según la presente invención, que especifica que los cristales obtenibles a partir de dichas sales contienen agua en cantidades estequiométricas o subestequiométricas específicas, tales como por ejemplo 0,5, 1 o 2 moléculas de agua por molécula del compuesto de fórmula (I) o fórmula (Ia) como se describe en la presente memoria.

Otros aspectos preferidos de la presente invención se resumen en los siguientes apartados [1] a [8]:

[1] Una sal del compuesto de fórmula (Ia)



fórmula (Ia)

con calcio (Ca).

5 [2] El compuesto del apartado [1], que es una sal de ácido 2-(3-fluoro-3'-metoxi-bifenil-4-ilcarbamoyl)-ciclopent-1-enocarboxílico con calcio (Ca).

10 [3] Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se define en cualquiera de los apartados [1] a [2], junto con diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

[4] Un compuesto según los apartados [1] a [2], para la utilización como un medicamento.

15 [5] La utilización del compuesto de la fórmula (Ia) como se define en cualquiera de los apartados [1] a [2] en la fabricación de un medicamento para la utilización en el tratamiento de una enfermedad o una indicación terapéutica en la que es beneficiosa la inhibición de dihidroorotato deshidrogenasa y/o interleucina-17 (IL-17).

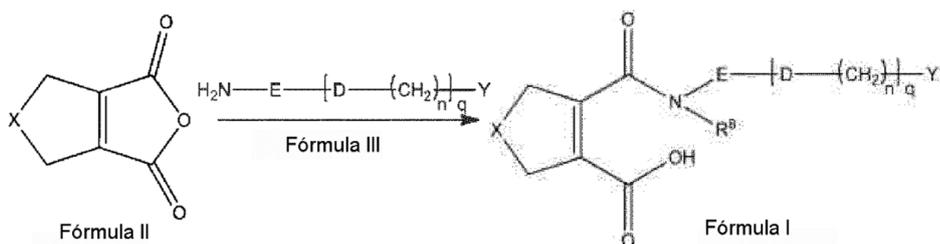
[6] La utilización del apartado [5], en la que la enfermedad o indicación es una enfermedad autoinmunitaria.

20 [7] La utilización del apartado [6], en la que las mencionadas enfermedades autoinmunitarias se seleccionan del grupo que consiste en espondilitis anquilosante, tiroiditis autoinmunitaria, celiaquía, enfermedad de Grave, enfermedad inflamatoria del intestino (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa), diabetes mellitus tipo 1, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, vitiligo, osteoartritis, psoriasis, artritis psoriásica o artritis reumatoide.

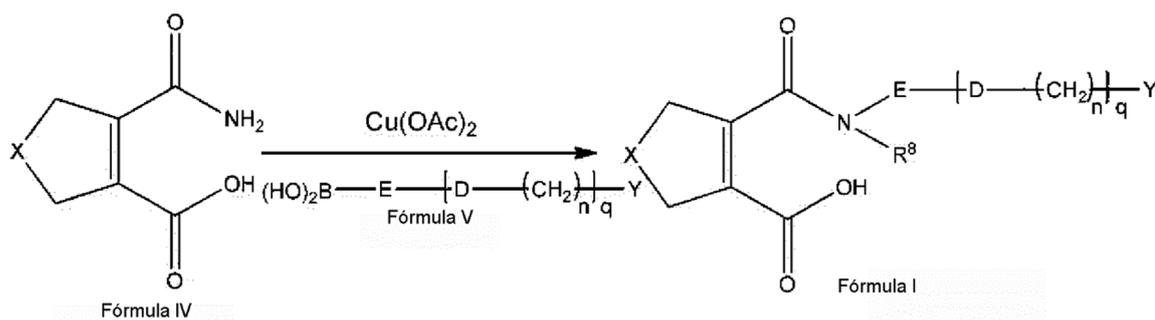
25 [8] La utilización del compuesto de la fórmula (Ia) como se define en cualquiera de los apartados [1] a [2], en la fabricación de un medicamento para la utilización en el tratamiento de cualquier forma de neoplasia.

30 Además, la presente invención proporciona métodos para preparar los compuestos de la invención, tales como amidas deseadas de la fórmula (I), así como para las sales de calcio de los mismos como se describe anteriormente.

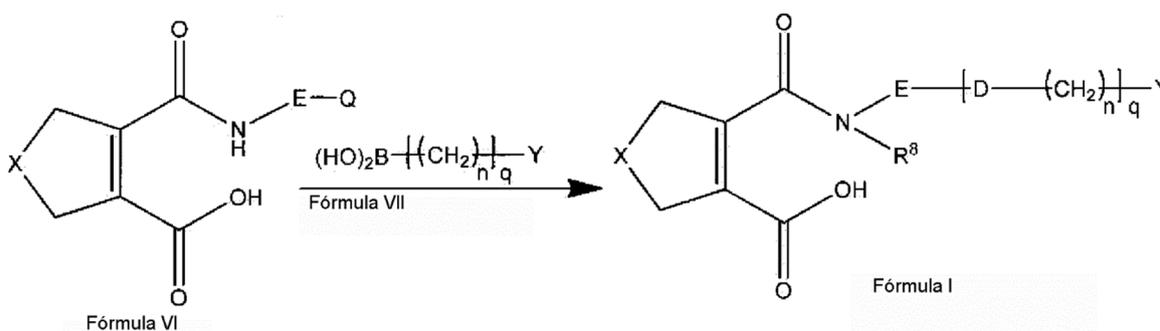
Un primer método para la síntesis de amidas de fórmula (I) comprende la etapa de hacer reaccionar un anhídrido de ácido de fórmula (II) con una amina de la fórmula (III).



35 Un segundo método de la invención para preparar los compuestos de fórmula (I) comprende la etapa de hacer reaccionar una amina de la fórmula (IV) con un ácido arilborónico de la fórmula general (V) $(HO)_2B-E-[D-(CHR^3)_n]_q-Y$ [M. P. Winters, Tetrahedron Lett, 39, (1998), 2933-2936].



5 Un tercer método de la invención para preparar los compuestos de fórmula (I) comprende la etapa de hacer reaccionar un derivado halogenado de la fórmula (VI) con un ácido arilborónico de la fórmula general (VII) [N. E. Leadbeater, S. M. Resouly, Tetrahedron, 55, 1999, 11889-11894]. Q es un grupo halógeno tal como cloro, bromo, flúor o yodo, prefiriéndose bromo.



10 En las estructuras de fórmulas II a VII como se representan aquí, los restos X, E, D, Y, R₈, así como las variables n y q, tienen el significado como se define aquí para la fórmula I.

Preferentemente, las sales de la presente invención son las sales de calcio derivadas de un compuesto seleccionado del grupo que comprende los compuestos 1 a 74 a continuación:

15

1. ácido 2-((4-(benciloxi)fenil)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

13. ácido 2-((2'-fluoro-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

20

14. ácido 2-((2'-cloro-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

15. ácido 2-((2'-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

25

16. ácido 2-((4-((2,6-difluorobencil)oxi)fenil)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

17. ácido 2-((2'-etoxi-3-fluoro-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

18. ácido 2-((2-cloro-3'-ciano-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

30

19. ácido 2-((2-cloro-4'-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

22. ácido 2-((3-cloro-4-(6-metoxipiridin-3-il)fenil)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

35

23. ácido 2-((4'-metoxi-2-metil-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

24. ácido 2-((3,5-dibromo-4-((2,5-difluorobencil)oxi)fenil)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

25. ácido 2-((3,5-dibromo-4-((3,4-difluorobencil)oxi)fenil)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

40

26. ácido 2-((3-fluoro-3'-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

27. ácido 2-((3,3'-difluoro-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

29. ácido 4-((4-(benciloxi)-3,5-dibromofenil)carbamoil)-2,5-dihidrotiemo-3-carboxílico

- 5
30. ácido 2-((3,4',5-trifluoro-3'-metil-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
31. ácido 2-((3,5-difluoro-2'-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
32. ácido 2-((2'-metoxi-3-nitro-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
33. ácido 2-((3-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
- 10
34. ácido 2-((2'-cloro-3-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
35. ácido 2-((3-metoxi-3'-(trifluorometoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
- 15
36. ácido 2-((2'-fluoro-3-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
37. ácido 2-((2',3,4'-trimetoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
38. ácido 2-((3'-etoxi-3-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
- 20
39. ácido 2-((3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
40. ácido 2-((3,5-dibromo-4-((2-cloro-6-fluorobencil)oxi)fenil)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
- 25
41. ácido 4-((2'-cloro-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)-2,5-dihidrotiofeno-3-carboxílico
42. ácido 2-((4-(m-toliltio)fenil)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
43. ácido 2-((3'-(trifluorometoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
- 30
44. ácido 2-((4-(benzo[b]tiefen-2-il)fenil)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
45. ácido 2-((4-(benzo[b]tiefen-2-il)-2-fluorofenil)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
- 35
46. ácido 2-((3'-etoxi-3-fluoro-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
47. ácido 4-((3,5-difluoro-2'-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)-2,5-dihidrofuran-3-carboxílico
50. ácido 2-((4-fenoxifenil)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
- 40
52. ácido 4-((3,5-dibromo-4-((2-cloro-6-fluorobencil)oxi)fenil)carbamoil)-2,5-dihidrotiofeno-3-carboxílico
53. ácido 2-((3-cloro-2'-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
- 45
54. ácido 2-((2-cloro-2'-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
56. ácido 2-((2,3,5,6-tetrafluoro-2'-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
57. ácido 2-((2'-metoxi-3-metil-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
- 50
58. ácido 2-((3,5-dicloro-2'-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
62. ácido 2-((2'-etoxi-3,5-difluoro-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
- 55
63. ácido 2-((3'-etoxi-3,5-difluoro-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
64. ácido 2-((3,5-difluoro-3'-(trifluorometoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
65. ácido 2-((2'-cloro-3,5-difluoro-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
- 60
66. ácido 2-((2',3,5-trifluoro-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
67. ácido 2-((3,5-difluoro-2',4'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-4-il)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
68. ácido 2-((3-cloro-4-((2-(trifluorometil)bencil)oxi)fenil)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico
- 65
69. ácido 2-((3-cloro-4-((2-cloro-6-fluorobencil)oxi)fenil)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

72. ácido 2-((4-(benciloxi)-3-clorofenil)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

74. ácido 2-((3-cloro-4-((2-fluorobencil)oxi)fenil)carbamoil)ciclopent-1-enocarboxílico

5

Preferentemente, las sales de calcio de la presente invención son las sales de calcio mencionadas anteriormente, en las que el compuesto de fórmula (I) se selecciona de entre el grupo que comprende los compuestos presentados a continuación en la tabla 1. El Ejemplo 76 no forma parte de la presente invención.

Tabla 1: abreviaturas: N.D. = no determinado, m_c = centro multiplete
La actividad de inhibición se define: A: 0-800 nM B: 800-1500 nM C: > 1500 nM

N	Estructura	RMN ¹ H	Masa molecular [g/mol]	HPLC/MS (ESI)	Valor de IC ₅₀ humana - [μM]	Valor de IC ₅₀ murina - [μM]	Valor de IC ₅₀ de rata - [μM]	
01		N.D.	337,37	338 [M+H] ⁺	0,350	8,2	N.D.	
13		δ = 1,91 (m _c , 2H, CH ₂), 2,65 (m _c , 2H, CH ₂), 2,78 (m _c , 2H, CH ₂), 7,27 - 7,51 (m, 6H, CH _{Ar}), 7,72 (d, 2H, CH _{Ar}), 10,40 (s, 1H, NH), 12,67 (s, 1H, OH).	325	326 [M+H] ⁺	A	C	C	
14		δ = 1,95 (m _c , 2H, CH ₂), 2,65 (m _c , 2H, CH ₂), 2,78 (m _c , 2H, CH ₂), 7,35 - 7,72 (m, 8H, CH _{Ar}), 10,36 (s, 1H, NH), 12,66 (s, 1H, OH).	341	342 [M+H] ⁺	A	C	C	
15		δ = 1,94 (m _c , 2H, CH ₂), 2,66 (m _c , 2H, CH ₂), 2,79 (m _c , 2H, CH ₂), 3,76 (s, 3H, O-CH ₃), 7,01-7,67 (m, 8H, CH _{Ar}), 10,30 (s, 1H, NH).	337	338 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.	
16		δ = 1,90 (m _c , 2H, CH ₂), 2,57 (m _c , 2H, CH ₂), 2,76 (m _c , 2H, CH ₂), 5,08 (s, 2H, CH ₂ -O), 6,95-7,57 (m, 7H, CH _{Ar}), 10,11 (s, 1H, NH), 11,33 (s, 1H, OH).	373	374 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.	
17		δ = 1,04 (m _c , 3H, O-CH ₂ -CH ₃), 1,65 (m _c , 2H, CH ₂), 2,45 (m _c , 2H, CH ₂), 2,55 (m _c , 2H, CH ₂), 3,82 (m _c , 2H, O-CH ₂ -CH ₃), 6,75-6,87 (m, 2H, CH _{Ar}), 7,06-7,28 (m, 4H, CH _{Ar}), 7,71-7,77 (m, 1H, CH _{Ar}), 10,23 (s, 1H, NH), 12,83 (s, 1H, OH).	369	370 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.	N.D.

Tabla 1: abreviaturas: N.D. = no determinado, m_c = centro multiplete
La actividad de inhibición se define: A: 0-800 nM B: 800-1500 nM C: > 1500 nM

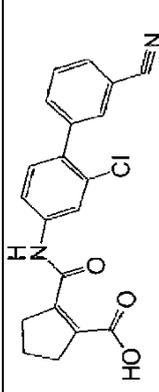
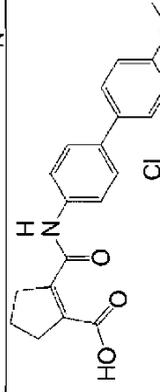
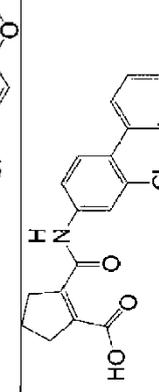
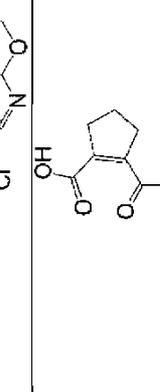
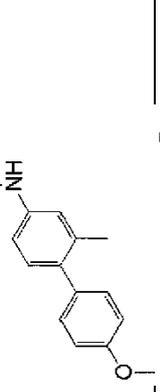
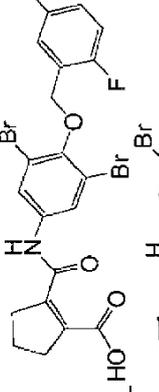
N	Estructura	RMN ¹ H	Masa molecular [g/mol]	HPLC/MS (ESI)	Valor de IC ₅₀ humana - [μM]	Valor de IC ₅₀ murina - [μM]	Valor de IC ₅₀ de rata - [μM]
18		δ = 1,7 (m _c , 2H, CH ₂), 2,60 (m _c , 2H, CH ₂), 2,73 (m _c , 2H, CH ₂), 7,36-7,91 (m, 7H, CH _{Ar}), 10,61 (s, 1H, NH), 12,61 (s, 1H, OH).	366	367 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
19		δ = 2,16 (m _c , 2H, CH ₂), 2,89 (m _c , 2H, CH ₂), 3,01 (m _c , 2H, CH ₂), 4,03 (s, 3H, O-CH ₃), 7,23-8,15 (m, 7H, CH _{Ar}), 10,66 (s, 1H, NH), 13,00 (s, 1H, OH).	371	372 [M+H] ⁺	A	A	A
22		δ = 1,74 (m _c , 2H, CH ₂), 2,48 (m _c , 2H, CH ₂), 3,71 (s, 3H, O-CH ₃), 6,70-8,02 (m, 6H, CH _{Ar}), 10,28 (s, 1H, NH), 12,48 (s, 1H, OH).	372	373 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
23		δ = 1,92 (m _c , 2H, CH ₂), 2,50 (s, 3H, CH ₃), 2,66 (m _c , 2H, CH ₂), 2,79 (m _c , 2H, CH ₂), 3,79 (s, 3H, O-CH ₃), 6,97-7,54 (m, 7H, CH _{Ar}), 10,20 (s, 1H, NH), 12,00 (s, 1H, OH).	351	352 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
24		δ = 1,92 (m _c , 2H, CH ₂), 2,64 (m _c , 2H, CH ₂), 2,74 (m _c , 2H, CH ₂), 5,02 (s, 2H, O-CH ₂), 7,28 - 7,93 (m, 5H, CH _{Ar}), 10,41 (s, 1H, NH), 12,68 (s, 1H, OH).	529	530 [M+H] ⁺	A	B	C
25		δ = 1,83 (m _c , 2H, CH ₂), 2,55 (m _c , 2H, CH ₂), 2,65 (m _c , 2H, CH ₂), 4,86 (s, 2H, O-CH ₂), 7,28 - 7,85 (m, 5H, CH _{Ar}), 10,34 (s, 1H, NH), 12,56 (s, 1H, OH).	529	530 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.

Tabla 1: abreviaturas: N.D. = no determinado, m_c = centro multiplete
La actividad de inhibición se define: A: 0-800 nM B: 800-1500 nM C: > 1500 nM

N	Estructura	RMN ¹ H	Masa molecular [g/mol]	HPLC/MS (ESI)	Valor de IC ₅₀ humana - [μM]	Valor de IC ₅₀ murina - [μM]	Valor de IC ₅₀ de rata - [μM]
26		δ = 1,89 (m _c , 2H, CH ₂), 2,69 (m _c , 2H, CH ₂), 2,80 (m _c , 2H, CH ₂), 3,83 (s, 3H, O-CH ₃), 6,92-8,09 (m, 7H, CH _{Ar}), 10,57 (s, 1H, NH).	355	356 [M+H] ⁺	A	C	C
27		δ = 1,67 (m _c , 2H, CH ₂), 2,47 (m _c , 2H, CH ₂), 2,58 (m _c , 2H, CH ₂), 6,94-7,91 (m, 7H, CH _{Ar}), 10,40 (s, 1H, NH), 12,81 (s, 1H, OH).	343	344 [M+H] ⁺	A	C	N.D.
29		δ = 3,93 (m _c , 2H, CH ₂), 4,03 (m _c , 2H, CH ₂), 4,87 (s, 2H, O-CH ₂), 7,30 - 7,83 (m, 7H, CH _{Ar}), 10,49 (s, 1H, OH).	511	512 [M+H] ⁺	A	C	B
30		δ(CD3OD) = 1,91 (m _c , 2H, CH ₂), 2,32 (s, 3H, CH ₃), 2,84 (m _c , 2H, CH ₂), 2,93 (m _c , 2H, CH ₂), 7,11 (m _c , 1H, CHAr), 7,29 (s, 1H, CHAr), 7,32 (s, 1H, CHAr), 7,43 - 7,56 (m, 2H, CHAr).	375	376 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
31		δ(CD3OD) = 2,00 (m _c , 2H, CH ₂), 2,84 (m _c , 2H, CH ₂), 2,94 (m _c , 2H, CH ₂), 3,83 (s, 3H, O-CH ₃), 7,00 - 7,10 (m, 2H, CHAr), 7,18 (s, 1H, CHAr), 7,21 (s, 1H, CHAr), 7,31 - 7,39 (m, 2H, CHAr).	373	374 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
32		δ = 1,90 (m _c , 2H, CH ₂), 2,64 (m _c , 2H, CH ₂), 2,74 (m _c , 2H, CH ₂), 3,76 (s, 3H, O-CH ₃), 7,03 (m _c , 1H, CHAr), 7,11 (m _c , 1H, CHAr), 7,34 (s, 1H, CHAr), 7,36 (s, 1H, CHAr), 7,72 - 7,82 (m, 2H, CHAr), 8,02 (s, 1H, CHAr), 10,59 (s, 1H, NH), 12,85 (s, 1H, OH).	382	383 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
33		δ = 1,85 (m _c , 2H, CH ₂), 2,71 (m _c , 2H, CH ₂), 2,80 (m _c , 2H, CH ₂), 3,92 (s, 3H, O-CH ₃), 7,22 (m _c , 1H, CHAr), 7,29 - 7,36 (m, 2H, CHAr), 7,45 (m _c , 2H, CHAr), 7,67 - 7,71 (m, 2H, CHAr), 8,18 (m _c , 1H, CHAr), 10,17 (s, 1H, NH).	337	338 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.

Tabla 1: abreviaturas: N.D. = no determinado, m_c = centro multiplete
La actividad de inhibición se define: A: 0-800 nM B: 800-1500 nM C: > 1500 nM

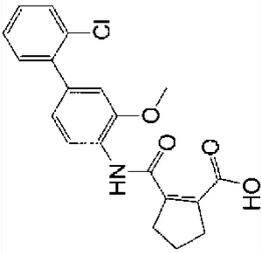
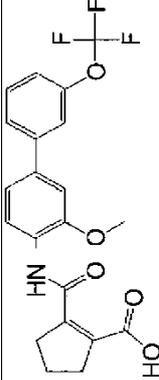
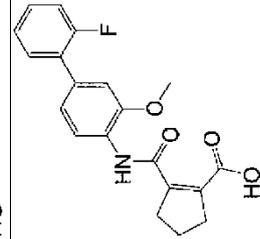
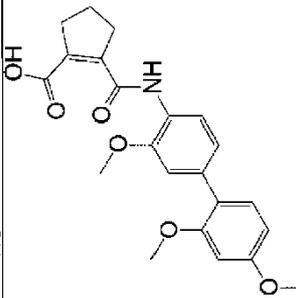
N	Estructura	RMN ¹ H	Masa molecular [g/mol]	HP/LC/MS (ESI)	Valor de IC ₅₀ humana - [μM]	Valor de IC ₅₀ murina - [μM]	Valor de IC ₅₀ de rata - [μM]
34		δ = 1,85 (mC, 2H, CH ₂), 2,71 (mC, 2H, CH ₂), 2,80 (mC, 2H, CH ₂), 3,85 (s, 3H, O-CH ₃), 6,98 (mC, 1H, CHAr), 7,10 (mC, 1H, CHAr), 7,37 - 7,46 (m, 3H, CHAr), 7,55 (mC, 1H, CHAr), 8,17 (mC, 1H, CHAr), 10,19 (s, 1H, NH).	371	372 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
35		δ = 1,84 (mC, 2H, CH ₂), 2,71 (mC, 2H, CH ₂), 2,80 (mC, 2H, CH ₂), 3,93 (s, 3H, O-CH ₃), 7,26 - 7,35 (m, 3H, CHAr), 7,57 (mC, 1H, CHAr), 7,67 (s, 1H, CHAr), 7,74 (mC, 1H, CHAr), 8,23 (mC, 1H, CHAr), 10,33 (s, 1H, NH).	421	422 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
36		δ = 1,85 (mC, 2H, CH ₂), 2,71 (mC, 2H, CH ₂), 2,80 (mC, 2H, CH ₂), 3,88 (s, 3H, O-CH ₃), 7,11 (mC, 1H, CHAr), 7,19 (s, 1H, CHAr), 7,25-7,42 (mC, 3H, CHAr), 7,56 (mC, 1H, CHAr), 8,20 (mC, 1H, CHAr), 10,23 (s, 1H, NH).	355	356 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
37		δ = 1,84 (mC, 2H, CH ₂), 2,71 (mC, 2H, CH ₂), 2,79 (mC, 2H, CH ₂), 3,76 (s, 3H, O-CH ₃), 3,79 (s, 3H, O-CH ₃), 3,83 (s, 3H, O-CH ₃), 6,60 (mC, 1H, CHAr), 6,64 (mC, 1H, CHAr), 7,98 (mC, 1H, CHAr), 7,08 (mC, 1H, CHAr), 7,24 (mC, 1H, CHAr), 8,04 (mC, 1H, CHAr), 10,24 (s, 1H, NH).	397	398 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.

Tabla 1: abreviaturas: N.D. = no determinado, m_c = centro multiplete
La actividad de inhibición se define: A: 0-800 nM B: 800-1500 nM C: > 1500 nM

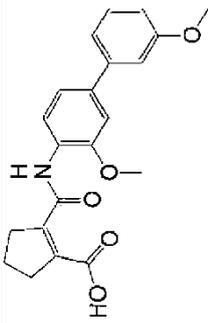
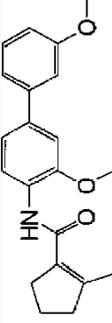
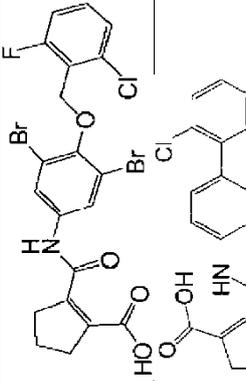
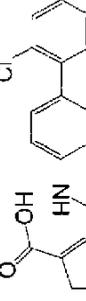
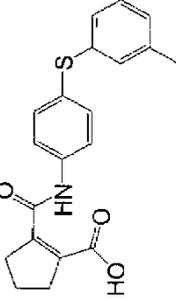
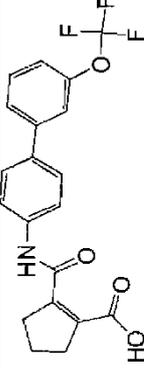
N	Estructura	RMN ¹ H	Masa molecular [g/mol]	HPLC/MS (ESI)	Valor de IC ₅₀ humana - [μM]	Valor de IC ₅₀ murina - [μM]	Valor de IC ₅₀ de rata - [μM]
38		δ = 1,34 (mC, 3H, O-CH ₂ CH ₃), 1,84 (mC, 2H, CH ₂), 2,71 (mC, 2H, CH ₂), 2,80 (mC, 2H, CH ₂), 3,92 (s, 3H, O-CH ₃), 4,09 (mC, 2H, O-CH ₂ CH ₃), 6,90 (mC, 1H, CHAR), 7,18 - 7,24 (mC, 3H, CHAR), 7,28 (mC, 1H, CHAR), 7,34 (mC, 1H, CHAR), 8,17 (mC, 1H, CHAR), 10,20 (s, 1H, NH).	381	382 [M++H] ⁺	A	N.D.	N.D.
39		δ = 1,84 (mC, 2H, CH ₂), 2,71 (mC, 2H, CH ₂), 2,80 (mC, 2H, CH ₂), 3,82 (s, 3H, O-CH ₃), 3,92 (s, 3H, O-CH ₃), 6,92 (mC, 1H, CHAR), 7,20-7,26 (m, 3H, CHAR), 7,28 (mC, 1H, CHAR), 7,36 (mC, 1H, CHAR), 8,19 (mC, 1H, CHAR), 10,24 (s, 1H, NH).	367	368 [M++H] ⁺	A	N.D.	N.D.
40		δ = 1,91 (mC, 2H, CH ₂), 2,63 (mC, 2H, CH ₂), 2,74 (mC, 2H, CH ₂), 5,21 (s, 2H, O-CH ₂), 7,22 - 7,89 (m, 5H, CHAR), 10,38 (s, 1H, NH), 12,65 (s, 1H, OH).	545	546 [M++H] ⁺	A	C	C
41		δ = 4,22 (mC, 2H, CH ₂), 4,34 (mC, 2H, CH ₂), 7,57 - 7,90 (m, 8H, CHAR), 10,65 (s, 1H, OH).	359	360 [M++H] ⁺	A	C	C
42		δ = 1,85 (mC, 2H, CH ₂), 2,17 (s, 2H, CH ₃), 2,56 (mC, 2H, CH ₂), 2,65-2,70 (m, 2H, CH ₂), 6,89-7,59 (m, 8H, CHAR), 10,29 (s, 1H, NH), 12,55 (s, 1H, OH).	353	354 [M++H] ⁺	A	A	A
43		δ = 1,94 (mC, 2H, CH ₂), 2,66 (mC, 2H, CH ₂), 2,79 (mC, 2H, CH ₂), 7,25-7,76 (m, 8H, CHAR), 10,36 (s, 1H, NH).	391	392 [M++H] ⁺	A	N.D.	N.D.

Tabla 1: abreviaturas: N.D. = no determinado, m_c = centro multiplete
La actividad de inhibición se define: A: 0-800 nM B: 800-1500 nM C: > 1500 nM

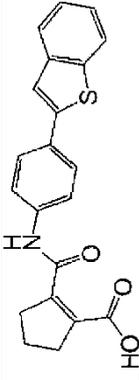
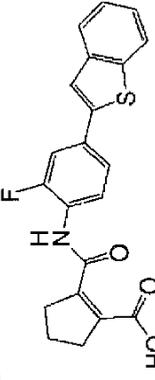
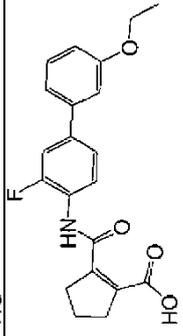
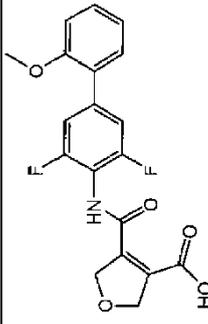
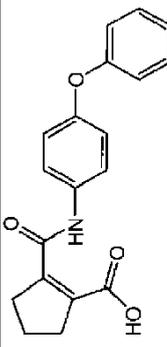
N	Estructura	RMN ¹ H	Masa molecular [g/mol]	HPLC/MS (ESI)	Valor de IC ₅₀ humana - [μM]	Valor de IC ₅₀ murina - [μM]	Valor de IC ₅₀ de rata - [μM]	
44		δ = 2,03 (mC, 2H, CH ₂), 2,77 (mC, 2H, CH ₂), 2,88 (mC, 2H, CH ₂), 7,41-8,07 (m, 9H, CHAR), 10,55 (s, 1H, NH), 12,83 (s, 1H, OH).	363	364 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.	
45		δ = 1,74 (mC, 2H, CH ₂), 2,55 (mC, 2H, CH ₂), 2,64 (mC, 2H, CH ₂), 7,18-8,02 (m, 8H, CHAR), 10,55 (s, 1H, NH), 12,91 (s, 1H, OH).	381	382 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.	
46		δ = 1,19 (s, 3H, O-CH ₂ -CH ₃), 1,74 (mC, 2H, CH ₂), 2,54 (mC, 2H, CH ₂), 2,65 (mC, 2H, CH ₂), 3,95 (mC, 2H, O-CH ₂ -CH ₃), 6,75-6,78 (m, 1H, CHAR), 7,04-7,38 (m, 3H, CHAR), 7,43-7,48 (m, 2H, CHAR), 7,87-7,93 (m, 1H, CHAR), 10,41 (s, 1H, NH), 12,90 (s, 1H, OH).	369	370 [M+H] ⁺	A	C	C	c
47		δ = 4,00 (s, 3H, O-CH ₃), 5,10 - 5,17 (m, 4H, CH ₂), 7,25 - 7,60 (m, 6H, CHAR), 10,55 (s, 1H, NH).	375	376 [M+H] ⁺	A	C	A	
50		δ = 1,90 (mC, 2H, CH ₂), 2,64 (mC, 2H, CH ₂), 2,76 (mC, 2H, CH ₂), 6,94 - 7,64 (m, 9H, CHAR), 10,25 (s, 1H, NH), 12,73 (s, 1H, OH).	323	324 [M+H] ⁺	A	A	A	

Tabla 1: abreviaturas: N.D. = no determinado, m_c = centro multiplete
La actividad de inhibición se define: A: 0-800 nM B: 800-1500 nM C: > 1500 nM

N	Estructura	RMN ¹ H	Masa molecular [g/mol]	HPLC/MS (ESI)	Valor de IC ₅₀ humana - [μM]	Valor de IC ₅₀ murina - [μM]	Valor de IC ₅₀ de rata - [μM]
52		δ = 4,08 (mC, 4H, CH ₂), 5,21 (mC, 2H, CH ₂), 6,61 - 7,63 (m, 9H, CHAR), 11,24 (s, 1H, NH).	563	564 [M++H] ⁺	A	B	A
53		δ (CDCl ₃) = 2,03 (mC, 2H, CH ₂), 3,01 - 3,09 (m, 4H, CH ₂), 3,81 (s, 3H, O-CH ₃), 6,96 - 7,05 (m, 2H, CHAR), 7,26 - 7,37 (m, 2H, CHAR), 7,50 (mC, 1H, CHAR), 7,63 (s, 1H, CHAR), 8,36 - 8,39 (m, 2H, NH and CHAR).	371	372 [M++H] ⁺	A	B	B
54		δ (CD ₃ OD) = 2,00 (mC, 2H, CH ₂), 2,81 (mC, 2H, CH ₂), 2,9 (mC, 2H, CH ₂), 3,76 (s, 3H, O-CH ₃), 6,97-7,07 (m, 2H, CHAR), 7,14 (mC, 1H, CHAR), 7,22 (mC, 1H, CHAR), 7,37 (mC, 1H, CHAR), 7,50 (mC, 1H, CHAR), 7,85 (mC, 1H, CHAR).	371	372 [M++H] ⁺	A	B	A
56		δ (DMSO-d ₆) = 1,93 (mC, 2H, CH ₂), 2,67 (mC, 2H, CH ₂), 2,79 (mC, 2H, CH ₂), 3,79 (s, 3H, O-CH ₃), 7,09 (mC, 1H, CHAR), 7,20 (mC, 1H, CHAR), 7,37 (mC, 1H, CHAR), 7,51 (mC, 1H, CHAR).	409	410 [M++H] ⁺	A	A	A
57		δ (CD ₃ OD) = 1,97 (mC, 2H, CH ₂), 2,33 (s, 3H, CH ₃), 2,84 (mC, 2H, CH ₂), 2,94 (mC, 2H, CH ₂), 3,78 (s, 3H, O-CH ₃), 6,96 - 7,06 (m, 2H, CHAR), 7,25 - 7,35 (m, 4H, CHAR), 7,50 (mC, 1H, CHAR).	351	352 [M++H] ⁺	A	B	B

Tabla 1: abreviaturas: N.D. = no determinado, m_c = centro multiplete
La actividad de inhibición se define: A: 0-800 nM B: 800-1500 nM C: > 1500 nM

N	Estructura	RMN ¹ H	Masa molecular [g/mol]	HPLC/MS (ESI)	Valor de IC ₅₀ humana - [μM]	Valor de IC ₅₀ murina - [μM]	Valor de IC ₅₀ de rata - [μM]
58		δ (CD3OD) = 1,93 (mC, 2H, CH2), 2,87 - 2,95 (m, 4H, CH2), 3,83 (s, 3H, O-CH3), 7,01 - 7,10 (m, 2H, CHAR), 7,29 - 7,37 (m, 2H, CHAR), 7,56 (s, 2H, CHAR).	405	406 [M+H] ⁺	A	B	B
62		δ (CD3OD) = 1,35 (mC, 3H, OCH2CH3), 2,00 (mC, 2H, CH2), 2,84 (mC, 2H, CH2), 2,94 (mC, 2H, CH2), 4,07 (mC, 2H, OCH2CH3), 6,98 - 7,08 (m, 2H, CHAR), 7,23 (mC, 2H, CHAR), 7,30 - 7,37 (m, 2H, CHAR).	387	388 [M+H] ⁺	A	B	A
63		δ (CD3OD) = 1,40 (mC, 3H, OCH2CH3), 1,99 (mC, 2H, CH2), 2,84 (mC, 2H, CH2), 2,93 (t, J = 7,5 Hz, 2H, CH2), 4,09 (mC, 2H, OCH2CH3), 6,94 (mC, 1H, CHAR), 7,13 - 7,20 (m, 2H, CHAR), 7,30-7,38 (m, 3H, CHAR).	387	388 [M+H] ⁺	A	B	A
64		δ (CD3OD) = 1,99 (mC, 2H, CH2), 2,85 (mC, 2H, CH2), 2,91 (mC, 2H, CH2), 7,31 - 7,39 (m, 3H, CHAR), 7,54 - 7,59 (m, 2H, CHAR), 7,66 (mC, 2H, CHAR).	427	428 [M+H] ⁺	A	C	N.D.
65		δ (CD3OD) = 2,00 (mC, 2H, CH2), 2,84 (mC, 2H, CH2), 2,94 (mC, 2H, CH2), 7,12 (s, 1H, CHAR), 7,14 (s, 1H, CHAR), 7,37 - 7,42 (m, 3H, CHAR), 7,49 - 7,53 (m, 1H, CHAR).	377	378 [M+H] ⁺	A	A	N.D.

Tabla 1: abreviaturas: N.D. = no determinado, m_c = centro multiplete
La actividad de inhibición se define: A: 0-800 nM B: 800-1500 nM C: > 1500 nM

N	Estructura	RMN ¹ H	Masa molecular [g/mol]	HPLC/MS (ESI)	Valor de IC ₅₀ humana - [μM]	Valor de IC ₅₀ murina - [μM]	Valor de IC ₅₀ de rata - [μM]
66		δ (CD3OD) = 2,00 (mC, 2H, CH2), 2,84 (mC, 2H, CH2), 2,94 (t, J = 7,8 Hz, 2H, CH2), 7,18 - 7,30 (m, 4H, CHAR), 7,38 - 7,46 (m, 1H, CHAR), 7,46 - 7,55 (m, 1H, CHAR).	361	362 [M+H] ⁺	A	B	N.D.
67		δ (CD3OD) = 1,94(mC, 2H, CH2), 2,84 - 2,92 (m, 4H, CH2), 3,82 (s, 3H, O-CH3), 3,83 (s, 3H, O-CH3), 6,58 - 6,64 (m, 2H, CHAR), 7,14 (s, 1H, CHAR), 7,17 (s, 1H, CHAR), 7,26 (mC, 1H, CHAR).	403	404 [M+H] ⁺	A	C	N.D.
68		δ = 1,90 (mC, 2H, CH2), 2,63 (mC, 2H, CH2), 2,74 (mC, 2H, CH2), 5,27 (s, 2H, O-CH2), 7,19 - 7,82 (m, 7H, CHAR), 10,23 (s, 1H, NH), 12,69 (s, 1H, OH).	439	440 [M+H] ⁺	A	C	C
69		δ = 1,89 (mC, 2H, CH2), 2,62 (mC, 2H, CH2), 2,74 (mC, 2H, CH2), 5,18 (mC, 2H, O-CH2), 7,27 - 7,77 (m, 6H, CHAR), 10,21 (s, 1H, NH), 12,69 (s, 1H, OH).	423	424 [M+H] ⁺	A	A	N.D.
72		δ = 1,73 (mC, 2H, CH2), 2,46 (mC, 2H, CH2), 2,57 (mC, 2H, CH2), 4,99 (mC, 2H, O-CH2), 7,00 - 7,62 (m, 8H, CHAR), 10,02 (s, 1H, NH), 12,70 (s, 1H, OH).	371	372 [M+H] ⁺	A	B	N.D.

Tabla 1: abreviaturas: N.D. = no determinado, m_c = centro multiplete
 La actividad de inhibición se define: A: 0-800 nM B: 800-1500 nM C: > 1500 nM

N	Estructura	RMN ¹ H	Masa molecular [g/mol]	HPLC/MS (ESI)	Valor de IC ₅₀ humana - [μM]	Valor de IC ₅₀ murina - [μM]	Valor de IC ₅₀ de rata - [μM]
74		δ = 1,82 (mC, 2H, CH ₂), 2,55 (mC, 2H, CH ₂), 2,67 (mC, 2H, CH ₂), 5,11 (mC, 2H, O-CH ₂), 7,14 - 7,72 (m, 7H, CHAR), 10,18 (s, 1H, NH), 12,53 (s, 1H, OH).	389	390 [M+H] ⁺	A	A	N.D.
76		δ (CDCl ₃) = 2,01 (mC, 2H, CH ₂), 2,99 - 3,04 (m, 4H, CH ₂), 3,81 (s, 3H, O-CH ₃), 6,96 - 7,04 (m, 2H, CHAR), 7,27 - 7,41 (m, 4H, CHAR), 8,19 (s, 1H, NH), 8,28 (mC, 1H, CHAR).	355	356 [M+H] ⁺	A	B	A

Los compuestos de fórmula (I) se pueden obtener mediante diversos métodos, incluyendo el método descrito en el documento JP-A-50-121428. En las formas de realización preferidas de los métodos de la invención, se usan los dos métodos de síntesis siguientes.

5 Método 1: En una primera etapa, los ácidos cicloalqueno-1,2-dicarboxílicos se pueden obtener a partir de los ácidos α,α' -dibromoalcanodicarboxílicos correspondientes como se describe por R.N. Mc Donald y R.R. Reitz, J. Org. Chem. 37, (1972) 2418-2422. El ácido ciclopenteno-1,2-dicarboxílico también se puede obtener en grandes cantidades a partir de ácido pimélico [D.C. Owsley y J.J. Bloomfield, Org. Prep. Proc. Int. 3, (1971) 61-70; R. Willstätter, J. Chem. Soc. (1926), 655-663].

10 Los ácidos dicarboxílicos sustituidos en el sistema de anillo se pueden sintetizar en general vía la síntesis de cianhidrina [Shwu-Jiüan Lee et. al., Bull. Inst. Chem. Academia Sinica Number 40, (1993), 1-10 o B. R. Baker at al., J. Org. Chem. 13, 1948, 123-133; y B. R. Baker at al., J. Org. Chem. 12, 1947, 328-332; L. A. Paquette et. al., J. Am. Chem. Soc. 97, (1975), 6124-6134].

15 Los ácidos dicarboxílicos se pueden convertir entonces en los anhídridos de ácido correspondientes haciéndolos reaccionar con anhídrido de ácido acético [P. Singh y S.M. Weinreb, Tetrahedron 32, (1976), 2379-2380].

20 Otros métodos para preparar anhídridos de ácido diferentes de fórmula (II) se describen en V. A. Montero at al., J. Org. Chem. 54, (1989), 3664-3667; P. ten Haken, J. Heterocycl. Chem. 7, (1970), 1211-1213; K. Alder, H. Holzrichter, J. Lieb. Annalen d. Chem. 524, (1936), 145-180; K. Alder, E. Windemuth, J. Lieb. Annalen d. Chem. 543, (1940), 56-78; y W. Flaig, J. Lieb. Annalen d. Chem. 568, (1950), 1-33.

25 Estos anhídridos se pueden hacer reaccionar entonces con las aminas correspondientes a las amidas deseadas de fórmula (I). Esta reacción se puede llevar a cabo mediante uso de las condiciones de reacción como se describen en J.V. de Julian Ortiz et al., J. Med. Chem. 42, (1999), 3308 (designada ruta A en el Ejemplo 1) o mediante el uso de 4-dimetilaminopiridina (designada ruta B en el Ejemplo 1).

30 Método 2: Las amidas de fórmula (I) también se pueden sintetizar haciendo reaccionar una amina de la fórmula (IV) con un ácido arilborónico de la fórmula general (V) [M. P. Winters, Tetrahedron Lett., 39, (1998), 2933-2936].

35 La biarilnilina se pueden sintetizar en general vía el acoplamiento de paladio [G. W. Kabalka et al., Chem. Commun., (2001), 775; A. Demeter, Tetrahedron Lett. 38; (1997), 5219-5222; V. Snieckus, Chem. Commun. 22, (1999), 2259-2260].

Método 3: Las amidas de fórmula (I) también se pueden sintetizar haciendo reaccionar un derivado halogenado de la fórmula (VI) con un ácido arilborónico de la fórmula general (VII) [N. E. Leadbeater, S. M. Resouly, Tetrahedron, 55, 1999, 11889-11894].

40 Las sales de calcio de la presente invención se pueden usar para una variedad de enfermedades humanas y de animales, preferentemente enfermedades humanas, en las que es beneficiosa la inhibición del metabolismo de las pirimidinas. Tales enfermedades son:

- 45 - fibrosis, uveítis, rinitis, asma o artropatía, en particular artrosis
- todas las formas de reumatismo
- sucesos y trastornos inmunológicos agudos tales como septicemia, choque séptico, choque endotóxico, septicemia por gramnegativas, síndrome de choque tóxico, síndrome disneico agudo, apoplejía, lesión con reperusión, lesión del SNC, formas graves de alergia, reacciones de injerto frente a hospedador y de hospedador frente a injerto, enfermedad de Alzheimer o piresis, restenosis, enfermedad inflamatoria pulmonar crónica, silicosis, sarcosis pulmonar, enfermedad de resorción ósea. Estos sucesos inmunológicos también incluyen una modulación y supresión deseada del sistema inmune;
- 50 - todos los tipos de enfermedades autoinmunitarias, en particular artritis reumatoide, espondilitis reumatoide, osteoartritis, artritis gotosa, esclerosis múltiple, diabetes mellitus insulino dependiente y diabetes no insulino dependiente, y lupus eritematoso, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria del intestino, así como otras inflamaciones crónicas, diarrea crónica;
- 55 - trastornos dermatológicos tales como psoriasis
- atrofia retiniana progresiva
- todos los tipos de infecciones, incluyendo infecciones oportunistas.

65

Las sales de calcio según la invención, y los medicamentos preparados con ellas, son generalmente útiles para el tratamiento de trastornos de proliferación celular, para el tratamiento o profilaxis de enfermedades y afecciones inmunológicas (como por ejemplo enfermedades inflamatorias, enfermedades neuroinmunológicas, enfermedades autoinmunitarias, u otras).

5 Las sales de calcio de la presente invención también son útiles para el desarrollo de medicamentos inmunomoduladores y antiinflamatorios, o, más generalmente, para el tratamiento de enfermedades en las que es beneficiosa la inhibición de la síntesis de pirimidinas.

10 Las sales de calcio de la presente invención también son útiles para el tratamiento de enfermedades que están causadas por proliferación de células malignas, tales como todas las formas de cáncer hematológico y sólido. Por lo tanto, los compuestos según la invención, y los medicamentos preparados con ellos, son generalmente útiles para regular la activación celular, la proliferación celular, la supervivencia celular, la diferenciación celular, el ciclo celular, la maduración celular y la muerte celular, o para inducir cambios sistémicos en el metabolismo, 15 tales como cambios en el metabolismo del azúcar, de lípidos o de proteínas. También se pueden usar para apoyar la poyesis de generación celular, incluyendo el crecimiento y generación de células de la sangre (efecto prohematopoyético) tras el agotamiento o destrucción de las células, causado por, por ejemplo, agentes tóxicos, radiación, inmunoterapia, defectos del crecimiento, malnutrición, mala absorción, desregulación inmune, anemia, y similares, o para proporcionar un control terapéutico de la generación y degradación tisulares, y la modificación 20 terapéutica del mantenimiento celular y tisular y la homeostasis de células de la sangre.

Estas enfermedades y afecciones incluyen, pero no se limitan a, cáncer, como tumores hematológicos (por ejemplo, leucemia, linfoma, mieloma) o sólidos (por ejemplo, de mama, próstata, hígado, vejiga, pulmón, 25 esofágico, estómago, colorrectal, genitourinario, gastrointestinal, de piel, pancreático, de cerebro, uterino, de colon, de cabeza y cuello, y ovárico, melanoma, astrocitoma, cáncer de pulmón microcítico, glioma, carcinoma de células basales y escamosas, sarcomas como sarcoma de Kaposi y osteosarcoma), tratamiento de trastornos que implican linfocitos T tales como anemia aplásica y síndrome de DiGeorge, enfermedad de Grave.

Se encontró previamente que la leflunomida inhibe la replicación de HCMV en cultivo celular. El herpes ocular es 30 la causa más común de ceguera infecciosa en el mundo desarrollado. Hay alrededor de 50.000 casos por año en los Estados Unidos de América solo, de los cuales el 90% son recidivas de infecciones iniciales. Las recidivas se tratan con antivirales y corticosteroides. El citomegalovirus, otro virus del herpes, es una causa común de daño retiniano y ceguera en pacientes con SIDA. Los compuestos de la presente invención se pueden usar solos o en combinación con otros compuestos antivirales, tales como ganciclovir y foscarnet, para tratar tales 35 enfermedades.

Las sales de calcio de la presente invención se pueden usar además para enfermedades que son causadas por infestaciones protozoarias en seres humanos y animales. Tales protozoos patógenos veterinarios y humanos son preferentemente parásitos activos intracelulares del filo Apicomplexa o Sarcomastigophora, especialmente 40 Trypanosoma, Plasmodia, Leishmania, Babesia y Theileria, Cryptosporidia, Sacrocystida, Amoebia, Coccidia y Trichomonadia. Estas sustancias activas, o fármacos correspondientes, son especialmente adecuadas para el tratamiento de malaria tropical, causada por *Plasmodium falciparum*, malaria terciaria, provocada por *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* y para el tratamiento de Malaria cuartana, provocada por *Plasmodium malariae*. También son adecuados para el tratamiento de toxoplasmosis, provocada por *Toxoplasma gondii*, 45 coccidiosis, provocada por ejemplo por *Isoospora belli*, sarcosporidiosis intestinal, provocada por *Sarcocystis sui hominis*, disentería, provocada por *Entamoeba histolytica*, criptosporidiosis, provocada por *Cryptosporidium parvum*, enfermedad de Chagas, provocada por *Trypanosoma cruzi*, enfermedad del sueño, provocada por *Trypanosoma brucei rhodesiense* o *gambiense*, las formas cutánea y visceral, así como otras formas de leishmaniasis. También son adecuados para el tratamiento de animales infectados por protozoos patógenos veterinarios, como *Theileria parva*, el patógeno que causa la fiebre de la Costa Este bovina, *Trypanosoma congolense congolense* o *Trypanosoma vivax vivax*, *Trypanosoma brucei brucei*, patógenos que provocan la enfermedad del ganado de Nagana en África, *Trypanosoma brucei evansi* que provoca surra, *Babesia bigemina*, el patógeno causante de la fiebre de Tejas en ganado y búfalos, *Babesia bovis*, el patógeno que causa babesiosis bovina europea así como babesiosis en perros, gatos y ovejas, los patógenos *Sarcocystis ovis* y *ovifelis* que causan sarcocistiosis en ovejas, ganado y cerdos, Cryptosporidia, patógenos que causan 50 criptosporidiosis en ganados y pájaros, las especies Eimeria e Isoospora, patógenos que causan coccidiosis en conejos, ganado, ovejas, cabras, cerdos y pájaros, especialmente en pollos y pavos. La utilización de los compuestos de la presente invención se prefiere en particular para el tratamiento de infecciones de coccidiosis o malaria, o para la preparación de un fármaco o producto alimentario para el tratamiento de estas enfermedades. Este tratamiento puede ser profiláctico o curativo. En el tratamiento de malaria, los compuestos de la presente 60 invención se pueden combinar con otros agentes antimaláricos.

Las sales de calcio de la presente invención se pueden usar además para infecciones víricas u otras infecciones provocadas, por ejemplo, por *Pneumocystis carinii*.

65

Preferentemente, las enfermedades o afecciones médicas a tratar o prevenir por las sales cálcicas según la presente invención se seleccionan del grupo que comprende reacciones de injerto frente a hospedante y de hospedante frente a injerto, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, lupus eritematoso, enfermedad inflamatoria del intestino, y psoriasis.

5 Las sales cálcicas de los compuestos de la fórmula (I) se pueden administrar a animales, preferentemente a mamíferos, y en particular a seres humanos, perros y pollos, como sustancias terapéuticas per se, como mezclas entre sí, o en forma de preparaciones farmacéuticas que permiten el uso entérico o parenteral y que, como constituyente activo, contienen una dosis eficaz de por lo menos una de las sales de calcio mencionadas anteriormente de un compuesto de la fórmula (I), además de excipientes y aditivos habituales farmacéuticamente inocuos.

15 Las sustancias terapéuticas se pueden administrar oralmente, por ejemplo en forma de pastillas, comprimidos, comprimidos revestidos, comprimidos revestidos con azúcar, cápsulas de gelatina duras y blandas, disoluciones, jarabes, emulsiones o suspensiones, o como mezclas de aerosol. Sin embargo, la administración también se puede llevar a cabo rectalmente, por ejemplo en forma de supositorios, o parenteralmente, por ejemplo en forma de inyecciones o infusiones, o percutáneamente, por ejemplo en forma de ungüentos, cremas o tinturas.

20 Además de las sales mencionadas anteriormente del compuesto activo de fórmula (I), la composición farmacéutica puede contener otros materiales portadores o excipientes habituales, normalmente inertes. De este modo, las preparaciones farmacéuticas también pueden contener aditivos, tales como, por ejemplo, cargas, extensores, agentes disgregantes, aglutinantes, agentes deslizantes, agentes humectantes, estabilizantes, emulsionantes, conservantes, agentes edulcorantes, colorantes, saborizantes o aromatizantes, sustancias amortiguadoras, y además disolventes o solubilizantes o agentes para lograr un efecto de depósito, así como sales para cambiar la presión osmótica, agentes de revestimiento o antioxidantes. También pueden contener las sales mencionadas anteriormente de dos o más compuestos de la fórmula (I), y también otras sustancias terapéuticamente activas.

30 De este modo, las sales de la presente invención se pueden usar solas o en combinación con otros compuestos activos - por ejemplo con medicamentos ya conocidos para el tratamiento de las enfermedades mencionadas anteriormente, con lo que, en este último caso, se observa un efecto amplificador aditivo favorable. Las cantidades adecuadas a administrar a seres humanos oscilan de 5 a 500 mg.

35 Para preparar las preparaciones farmacéuticas, se pueden usar excipientes inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente inertes. Para preparar pastillas, comprimidos, comprimidos revestidos y cápsulas de gelatina dura, se puede usar, por ejemplo, lactosa, almidón de maíz o derivados del mismo, talco, ácido esteárico o sus sales, etc. Los excipientes para cápsulas de gelatina blandas y supositorios son, por ejemplo, grasas, ceras, polioles semisólidos y líquidos, aceites naturales o endurecidos, etc. Los excipientes adecuados para la producción de disoluciones y jarabes son, por ejemplo, agua, sacarosa, azúcar invertido, glucosa, polioles, etc. Los excipientes adecuados para la producción de disoluciones para inyección son, por ejemplo, agua, alcoholes, glicerol, polioles, o aceites vegetales.

45 La dosis puede variar dentro de límites amplios, y será adecuada para las condiciones individuales en cada caso individual. Para las utilizaciones anteriores, la dosificación apropiada variará dependiendo del modo de administración, de la afección particular a tratar, y del efecto deseado. En general, sin embargo, se logran resultados satisfactorios a tasas de dosificación de alrededor de 1 a 100 mg/kg de peso corporal del animal, preferentemente 1 a 50 mg/kg. Las tasas de dosificación adecuadas para mamíferos grandes, por ejemplo seres humanos, son del orden de alrededor de 10 mg a 3 g/día, administrado convenientemente de una sola vez, en dosis divididas 2 a 4 veces al día, o en forma de liberación sostenida.

50 En general, una dosis diaria de aproximadamente 10 mg a 5000 mg, preferentemente 50 a 500 mg, por individuo humano es apropiada en el caso de la administración oral, que es la forma preferida de administración según la invención. En el caso de otras formas de administración también, la dosis diaria está en intervalos similares.

55 Breve descripción de las figuras

Figura 1: Reducción de la proliferación de linfocitos T humanos causada por ácido 2-(bifenil-4-ilcarbamoil)-ciclopent-1-enocarboxílico usado a una concentración de 10 μ M.

60 Figura 2: Comparación de los niveles plasmáticos de vidofludimus en forma de ácido libre (puntos negros) y en forma de sal de calcio (puntos blancos) en ratas tras una única dosificación oral de 10 mg/kg de peso corporal.

65 Figura 3: Espectro de Raman para la sal de Ca (traza superior) y ácido libre (inferior).

Figura 4: Microscopía óptica con polarizadores cruzados de la sal de Ca de vidofludimus.

Figura 5: PXRD de la sal de Ca de vidofludimus.

Figura 6: PXRD de ácido libre de vidofludimus.

5

Ejemplos

La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes Ejemplos no limitantes. Los datos mostrados para los compuestos específicos representados en la Tabla 1 anterior también se refieren a Ejemplo específico de la presente invención.

10

Montaje experimental/instrumental

RMN ¹H: Los espectros de RMN ¹H se registraron usando un espectrómetro de Bruker DPX300 con una frecuencia protónica de 300,13 MHz, un pulso de excitación a 30°, y un retraso de la recirculación de 1 s. Se acumularon 16 barridos, D₂O; MeOD o d₆-DMSO se usó como el disolvente.

15

DSC: La calorimetría de barrido diferencial se llevó a cabo con un instrumento Perkin Elmer DSC-7 (bandeja de muestra de oro cerrada en atmósfera de N₂). Las muestras se calentaron hasta el punto de fusión a una velocidad de 10 K/min., después se enfriaron (velocidad de enfriamiento 200 K/min.), y posteriormente se calentaron de nuevo a una velocidad de 10 K/min.

20

DVS (SMS): Analizador de sorción de vapor de agua Surface Measurement Systems Ltd. DVS-1. La muestra se colocó en una bandeja de muestra de platino y se dejó equilibrar a una humedad relativa (r.h.) dada, habitualmente 50% de r.h. Después, se inició un programa de humedad predefinida, con una velocidad de barrido de 5% de r.h. de cambio por hora. Primera etapa: de 50% de r.h. a 0% de r.h. (en caso de un posible hidrato como material de partida 50 a 95% de r.h.), segunda etapa: de 0% a 95% de r.h. (en caso de un posible hidrato como material de partida 95 a 0% de r.h.).

25

Espectroscopía de FT-Raman: Los espectros de FT-Raman se registraron en un sistema de FT-Raman Bruker RFS 100, con un láser de Nd:YAG del infrarrojo cercano que opera a 1064 nm y un detector de germanio enfriado con nitrógeno líquido. Para cada muestra, se acumuló un mínimo de 64 barridos, con una resolución de 2 cm⁻¹. Se usó una potencia de láser nominal de 300 mW. Los datos de FT-Raman se muestran en la región entre 3500 a 100 cm⁻¹. Por debajo de 100 cm⁻¹, los datos no son fiables debido al corte del filtro de Raileigh.

30

35

Microscopía óptica: Microscopio Leitz Orthoplan 110680 equipado con una cámara Leica DFC280 y un de software captura de imágenes IM50 v.5. Las imágenes se registraron con o sin polarizadores cruzados, y con un aumento de 4x, 10x, o 25x.

Difracción de rayos X de polvo: Bruker D8; radiación de cobre Ka, 40 kV/40 mA; detector LynxEye, 0,02°2θ tamaño de etapa, tiempo de la etapa 37 s.

40

Preparación de la muestra: Las muestras se midieron generalmente sin ningún tratamiento especial distinto de la aplicación de una ligera presión para obtener una superficie plana. Se usaron soportes de muestra de cristal único de silicio (0,1, 0,5 o 1 mm de profundidad). Las muestras se hicieron girar durante la medida.

45

Microscopía de Raman: Sistema de Raman Renishaw in Via Reflex. Láser de diodo estabilizado con excitación a 785 nm y una cámara CCD enfriada con Peltier mejorada con NIR como el detector. Las medidas se llevaron a cabo con un objetivo de 20x de distancia de trabajo larga. Intervalo de número de ondas 2000-100 cm⁻¹, tiempo de detección 10 s, tres acumulaciones por espectro.

50

Disolventes: Para todos los experimentos, se usaron disolventes de grado analítico de Fluka, Merck o ABCR.

TG-FTIR: Las medidas termogravimétricas se llevaron a cabo con una Netzsch Thermo-Microbalance TG 209 acoplada a un espectrómetro de FTIR Bruker Vector 22 o IFS 28 (bandejas de muestra con orificio, atmósfera de N₂, velocidad de calentamiento 10°C/min., intervalo 25°C a 350°C).

55

HPLC: La HPLC se llevó a cabo con un cromatógrafo de líquidos Dionex UltiMate[®] 3000 que comprende una gradilla de disolventes, un desgasificador de vacío, una bomba binaria (mikro), una mezcladora estática (500 µl), un automuestreador, un bucle de muestra de 25 µl, una jeringuilla de 100 µl, un horno de columna y un detector DAD (celda de semimicromedida), que se ajustó para el análisis UV. El análisis de los datos se realizó con Chromeleon[®] 6.80 SP3. Los compuestos se separaron a 30°C en una columna Fenomenex Onyx[™] Monolítica C18 50x2 mm. El volumen de inyección fue 2 µl, y la longitud de onda de detección fue 305 nm. Como fase móvil, se usó un gradiente de ácido fórmico al 0,1% en agua de grado HPLC/acetoneitrilo, partiendo de una concentración de acetoneitrilo al 5%. La concentración de partida se mantuvo durante 1 minuto, después el gradiente se elevó linealmente hasta acetoneitrilo al 95% durante el transcurso de 2 min., se mantuvo durante 0,7

60

65

min. en acetonitrilo al 95%, después de lo cual se devolvió a acetonitrilo al 5% en 0,1 min., y se mantuvo constante durante 0,7 min. para reequilibrar la columna. El caudal de la fase móvil fue 1,5 ml/min.

Ejemplo 1. Síntesis de compuestos de fórmula (I)

La síntesis de compuestos de fórmula (I) se describe con detalle en el documento WO 2003/0006425, que se incorpora a la presente memoria como referencia.

Ejemplo 2. Ensayo de inhibición de la actividad de DHODH

La mezcla de ensayo estándar contenía 50 μM de desciclobiquinona, 100 μM de dihidroorotato, 60 μM de 2,6-dicloroindofenol, así como 20 mU de DHODH. La actividad volumétrica de la enzima recombinante usada fue 30 U/ml. Las medidas se llevaron a cabo en 50 mM de TrisHCl (150 mM de KCl, 0,1% de Triton X-100, pH 8,0) a 30°C en un volumen final de 1 ml. Los componentes se mezclaron, y la reacción se comenzó añadiendo dihidroorotato. El curso de la reacción se siguió midiendo espectrofotométricamente la disminución en la absorción a 600 nm durante 2 min.

Se llevaron a cabo estudios inhibidores en un ensayo estándar con cantidades variables adicionales de inhibidor. Para la determinación de los valores de IC_{50} (concentración de inhibidor requerida para la inhibición del 50%), se aplicaron por lo menos cinco concentraciones de inhibidor diferentes.

Estas investigaciones se llevaron a cabo con DHODH humana recombinante así como murina recombinante proporcionada por Prof. M. Löffler, Marburgo, Alemania [M. Löffler, Chem. Biol. Interact. 124, (2000), 61-76].

Como referencia, se usó el metabolito activo de leflunomida A77-1726 (Compuesto 12) [J. Jöckel et. al. Biochemical Pharmacology 56 (1998), 1053-1060].

Los resultados del ensayo de inhibición se muestran en la Tabla 1 anterior. A partir de la comparación de los valores de IC_{50} , es evidente que los compuestos usados para la preparación de las sales según la presente invención no solo tienen una actividad inhibidora comparable o incluso mejor sobre la enzima humana que el metabolito activo de leflunomida, sino también tienen una mayor especificidad por la enzima humana.

Ejemplo 3. Ensayo de proliferación de linfocitos T humanos

Se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) humanas de voluntarios sanos, y se transfirieron a medio de cultivo celular RPMI1640 que contiene 10% de suero fetal de ternera dializado. Se pipetearon 80.000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos, y se añadió fitohemaglutinina (PHA) en disolución salina amortiguada con fosfato, hasta una concentración final de 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$, para estimular la proliferación de linfocitos T. Se añadió vidofludimus en dimetilsulfóxido (DMSO, concentración final: 0,1% en volumen) hasta concentraciones finales que oscilan de 20 nM a 50 μM . Tras la incubación durante 48 horas, la proliferación celular se cuantificó usando el "ELISA de proliferación celular BrdU" (Roche) según las instrucciones del fabricante. La inhibición semimáxima (IC_{50}) se calculó usando un ajuste de curva sigmoide de 4 parámetros. La proliferación de linfocitos T fue inhibida por vidofludimus con una IC_{50} de 4,1 μM (véase la Fig. 1).

Ejemplo 4: Preparación de las sales de calcio

Se disolvieron 300,4 mg de vidofludimus en forma de ácido libre en 18 ml de DCM/MeOH (3:1), y se sometió a ultrasonidos durante 8 minutos. Se suspendieron 31,5 mg de hidróxido de calcio en 3 ml de DCM/MeOH (3:1); esto se añadió lentamente a la disolución de vidofludimus en forma de ácido libre. La ligera suspensión se agitó toda la noche a 25°C. El disolvente se evaporó parcialmente bajo caudal de nitrógeno a 25°C. Se observó una suspensión amarilla clara espesa. El sólido se recuperó mediante filtración y se lavó con DCM/MeOH (3:1). El material se secó durante 15 min. a vacío a 25°C. Se mostró que el material es cristalino usando los métodos descritos en lo siguiente.

A partir del análisis elemental, se calculó la relación de flúor a calcio. La composición elemental es esencialmente consistente con una sal hemicálcica.

El espectro de Raman del compuesto recientemente formado demostró diferencias con el del ácido libre (véase la Figura 3 para ambos espectros). Nótese que un espectro de Raman que no es simplemente la superposición de los espectros del ácido libre, del formador de sal y del disolvente, por ejemplo un espectro de Raman en el que se observan nuevos picos o picos desplazados, puede corresponder a una sal. Sin embargo, a partir del espectro de Raman solo, no se puede determinar si ha ocurrido la formación de sal cristalina. Los desplazamientos de los picos podrían ser debido también, en principio, a complejación del ácido libre y del formador de la sal como un producto amorfo, a polimorfos del ácido libre o formador de la sal, a impurezas, o a productos de degradación. Por lo tanto, la integridad de la estructura molecular se confirmó mediante RMN ^1H .

Además, la difracción de rayos X de polvo representada en la Figura 5 muestra que se obtuvo material cristalino, sin embargo con un patrón diferente al del ácido libre (véase la Figura 6). Los cristales se visualizaron mediante microscopía con luz (Figura 4), la DSC (calorimetría de barrido diferencial) demostró un punto de fusión de alrededor de 155°C (indicando una fusión de un solvato y de una forma no solvatada), la TG-FTIR (espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier acoplada a un analizador termogravimétrico) indica que probablemente se formaron un solvato de metanol y un hidrato, y la sorción de vapor dinámica reveló desolvatación seguida de captación de 0,3% de agua a alrededor de 85% de r.h. y captación de 0,4% de agua a 95% de r.h. (no reversible).

10 Ejemplo 5: Investigación de la solubilidad de los compuestos

Se examinaron las solubilidades acuosas de vidofludimus en forma de ácido libre (ácido 2-(3-fluoro-3'-metoxibifenil-4-ilcarbamoil)-ciclopent-1-enocarboxílico), su sal potásica y su sal de calcio. El principio del método se basó en las Directrices de OECD para el ensayo de sustancias químicas, 105 "Solubilidad en Agua". Se pesaron 2 mg de los compuestos experimentales en viales Eppendorf de 1,5 ml. Subsiguientemente, se añadió agua para llegar a una concentración de 5 mg/ml. Tras la preparación de las muestras de solubilidad, se incubaron durante 24 h a 23°C con agitación continua. Después, las muestras se centrifugaron para separar el precipitado del compuesto disuelto. Los sobrenadantes se transfirieron a viales de HPLC marcados, para la cuantificación mediante HPLC-UV. Finalmente, estas muestras de HPLC se realizaron en el sistema de HPLC-UV, y sus contenidos se calcularon a partir de las curvas de calibración. La concentración de compuesto en el sobrenadante es igual a su solubilidad en agua. Se encontraron las siguientes solubilidades acuosas para vidofludimus en forma de ácido libre y sus sales potásica y cálcica:

25 Tabla 2 – Solubilidad de la sal de calcio de vidofludimus en comparación con la sal potásica y la forma de ácido libre

Solubilidad [$\mu\text{g}/\text{ml}$]	Vidofludimus		
	Ácido libre	Sal potásica	Sal cálcica
	9,5	4700	16,2

30 Ejemplo 6: Determinación de la biodisponibilidad

Se compararon las biodisponibilidades orales de la sal de calcio y del ácido libre de vidofludimus en ratas Wistar machos. El ácido libre o la sal de calcio se introdujo en cápsulas de gelatina, y los animales recibieron una única administración a una dosis de aproximadamente 10 mg de equivalentes de ácido libre por kilogramo de peso corporal.

35 Cuatro ratas Wistar machos (intervalo de peso corporal: 250-275 g) por grupo se trataron con vidofludimus en forma de ácido libre o con su sal de calcio. Las cápsulas se administraron al esófago de los animales usando un dispositivo de aplicación. Se tomaron muestras de sangre venosa de los animales bajo anestesia de isoflurano en los siguientes puntos de tiempo después de la administración: 30 min.; 1 h; 2 h; 4 h; 6 h; 8 h; 24 h; 28 h; 32 h y 48 h. La coagulación se inhibió usando heparina sódica, y se generó plasma mediante centrifugación de las muestras de sangre. Las muestras de plasma se analizaron para determinar vidofludimus mediante LC-MS/MS, y los parámetros farmacocinéticos se calcularon usando el método trapezoidal lineal logarítmico mixto.

45 Para examinar la sal potásica, se trataron seis ratas Lewis hembras (peso corporal aprox. 200 g) con vidofludimus en forma de ácido libre o con su sal potásica a una dosis de 30 mg/kg (equivalentes de ácido libre). Los compuestos se formularon en 0,5% de metilcelulosa en disolución salina amortiguada con fosfato, y los animales se trataron mediante sonda oral. Se tomaron muestras de sangre venosa de los animales bajo anestesia de isoflurano en los siguientes puntos de tiempo tras la administración: 30 min.; 1 h; 2 h; 4 h; 8 h; 26 h; 33h; 48 h y 72 h. La coagulación se inhibió usando heparina sódica, y se generó plasma mediante centrifugación de las muestras de sangre. Las muestras de plasma se analizaron para determinar vidofludimus mediante LC-MS/MS, y los parámetros farmacocinéticos (AUC) se calcularon según el método de la regla trapezoidal lineal.

50 Las biodisponibilidades orales de las sales se evaluaron comparando las áreas bajo las curvas de concentración plasmática frente al tiempo (AUCs) y las concentraciones plasmáticas máximamente logradas (valores de C_{max}) de vidofludimus tras la administración de la sal con aquellas observadas tras la administración del ácido libre. Estas relaciones se muestran en la Tabla 3 y en la Fig. 2.

55 Tabla 3: Comparación de los parámetros PK tras la aplicación oral de vidofludimus a ratas

Compuesto	$AUC_{\text{inf}}/AUC_{\text{inf}}$, ácido libre	$C_{\text{max}}/C_{\text{max}}$, ácido libre
Vidofludimus en forma de ácido libre	1	1
Sal potásica	0,96	1,09
Sal cálcica	1,72	1,67

Ejemplo 7: Determinación de la estabilidad a largo plazo

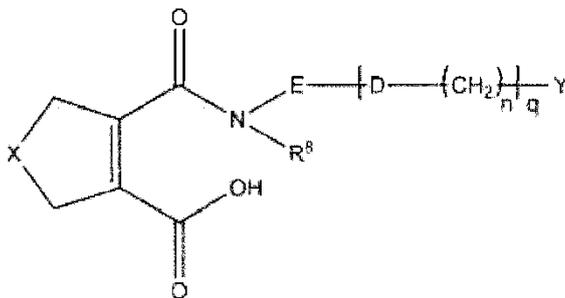
Los compuestos se almacenaron durante 18 meses en condiciones ambientales (20-25°C, humedad relativa del 30-60%), y se analizaron subsiguientemente mediante HPLC para determinar la pureza.

5

Compuesto	Aparición del producto de hidrólisis en HPLC tras 18 meses de almacenamiento	Área del pico
Vidofludimus en forma de ácido libre	Por debajo de la LOD*	>99%
Sal de Ca	Por debajo de la LOD*	>99%
*LOD para el producto de la hidrólisis: 0,1 µg/ml		

REIVINDICACIONES

1. Sal de calcio de un compuesto de la fórmula general (I)



(I).

5

en la que

- X se selecciona de entre el grupo que consiste en CH₂, S, u O;
- D es O o S;
- R⁸ es hidrógeno o alquilo;
- E es un grupo fenileno opcionalmente sustituido;
- Y es un sistema de anillo de 6-9 miembros sustituido o no sustituido monocíclico o bicíclico que puede contener uno o más heteroátomos seleccionados de entre N o S y que contiene por lo menos un anillo aromático;
- n es 0 o 1; y
- q es 0 o 1;
- con la condición de que se excluyan las sales de calcio de los compuestos en los que X = CH₂, q = 0, Y = fenilo no sustituido y E = fenileno no sustituido,
- o un hidrato de la misma.
2. Sal de calcio o hidrato de la misma según la reivindicación 1, en la/el que R⁸ es hidrógeno o metilo.
3. Sal de calcio o hidrato de la misma según la reivindicación 1 o 2, en la/el que Y es fenilo sustituido o no sustituido.
4. Sal de calcio o hidrato de la misma según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la/el que q es 0.
5. Sal de calcio o hidrato de la misma según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la/el que E es un grupo fenileno no sustituido o un grupo fenileno que está sustituido con uno o más grupos seleccionados independientemente de entre halógeno, nitro o alcoxi.
6. Sal de calcio o hidrato de la misma según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la/el que Y es un grupo fenilo no sustituido o un grupo fenilo que está sustituido con uno o más grupos seleccionados independientemente de entre halógeno, alquilo, alcoxi, haloalcoxi, haloalquilo o CN.
7. Sal de calcio o hidrato de la misma según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la/el que E es un grupo fenilo que está sustituido con uno o más grupos seleccionados independientemente de entre metoxi o trifluorometoxi, todavía incluso más preferentemente metoxi.
8. Sal de calcio o hidrato de la misma según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la/el que el compuesto de fórmula (I) es el ácido 2-(3-fluoro-3'-metoxi-bifenil-4-ilcarbamoil)-ciclopent-1-enocarboxílico.
9. Composición farmacéutica que comprende una sal o un hidrato de la misma como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, junto con diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.
10. Sal de calcio o hidrato de la misma según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para la utilización como un medicamento.

- 5 11. Utilización de una sal de calcio o un hidrato de la misma según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la fabricación de un medicamento para la utilización en el tratamiento de una enfermedad o una indicación terapéutica seleccionada de entre el grupo que comprende reumatismo, trastornos inmunológicos agudos, enfermedades autoinmunitarias, enfermedades causadas por proliferación de células malignas, enfermedades inflamatorias, enfermedades que están causadas por infestaciones protozoicas en seres humanos y animales, enfermedades que están causadas por infecciones víricas y *Pneumocystis carinii*, fibrosis, uveítis, rinitis, asma o artropatía.
- 10 12. Utilización según la reivindicación 11, en la que la enfermedad o una indicación terapéutica se selecciona de entre el grupo que comprende reacciones de injerto frente a hospedador y hospedador frente a injerto, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, lupus eritematoso, enfermedad inflamatoria del intestino, y psoriasis.
- 15 13. Procedimiento para la preparación de una sal de calcio o un hidrato de la misma como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende las etapas de
- 20 a) añadir una suspensión de hidróxido de calcio en un disolvente orgánico a una disolución del ácido libre de un compuesto de fórmula (I) como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 anteriores,
- b) agitar la suspensión obtenida en la etapa a),
- c) evaporar por lo menos parcialmente dicho disolvente orgánico para obtener una suspensión de la sal de calcio de dicho compuesto de fórmula (I),
- 25 d) recuperar la sal de calcio de dicho compuesto de fórmula (I) de la mezcla obtenida en la etapa c), y
- e) lavar con dicho disolvente orgánico la sal de calcio de dicho compuesto de fórmula (I) obtenida en la etapa d).

Fig. 1:

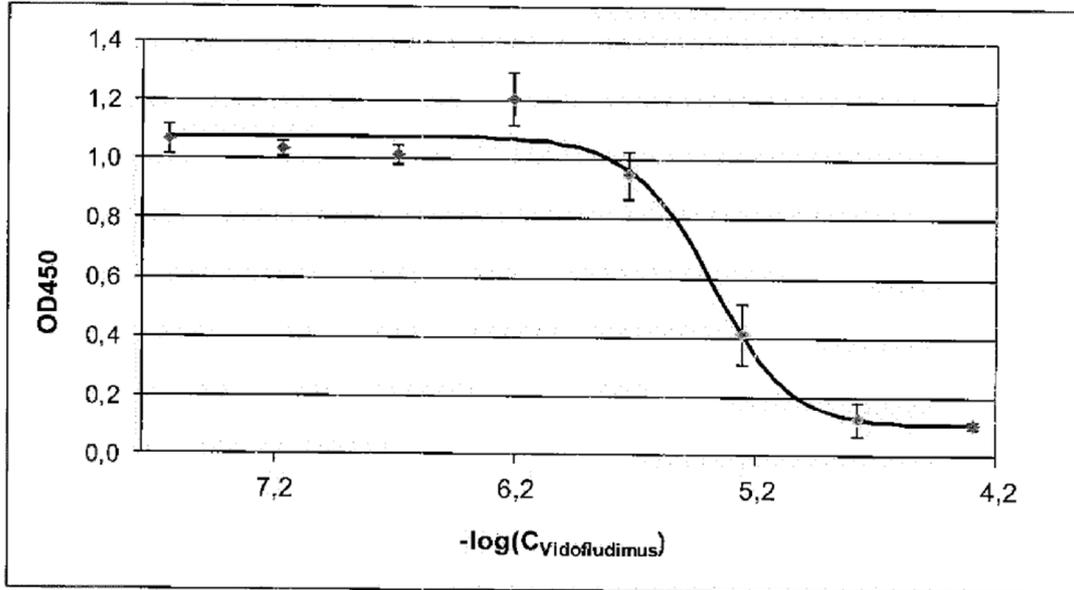


Fig. 2:

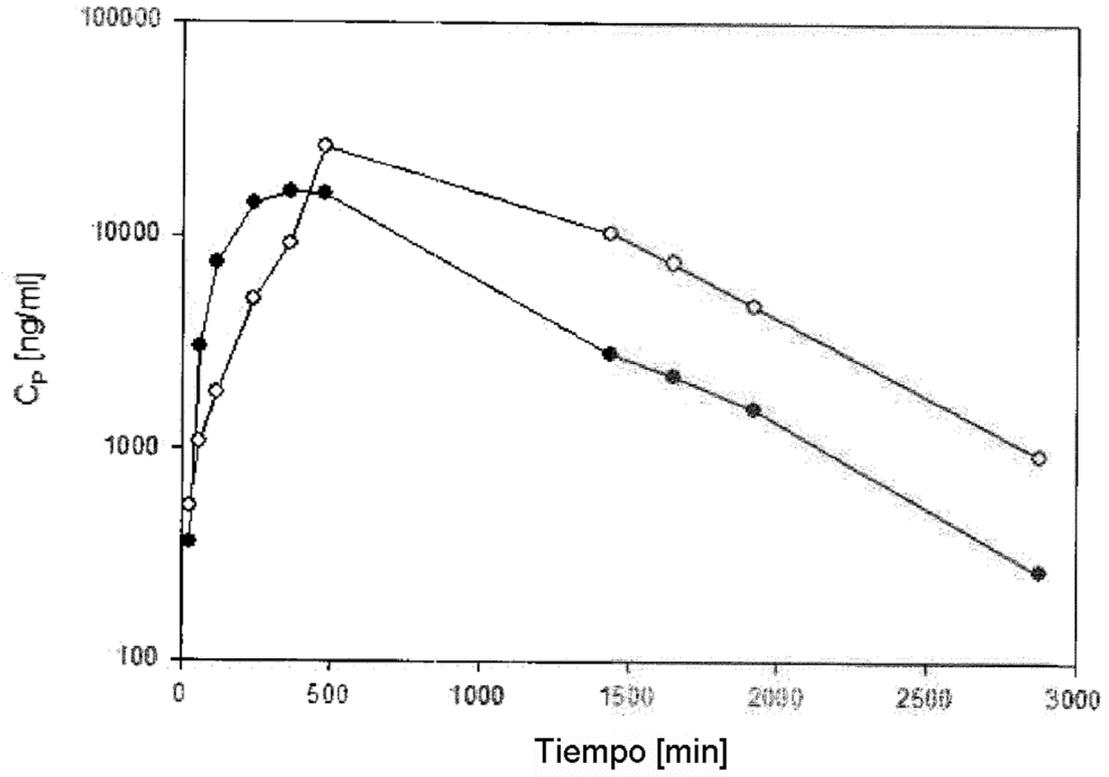


Fig. 3:

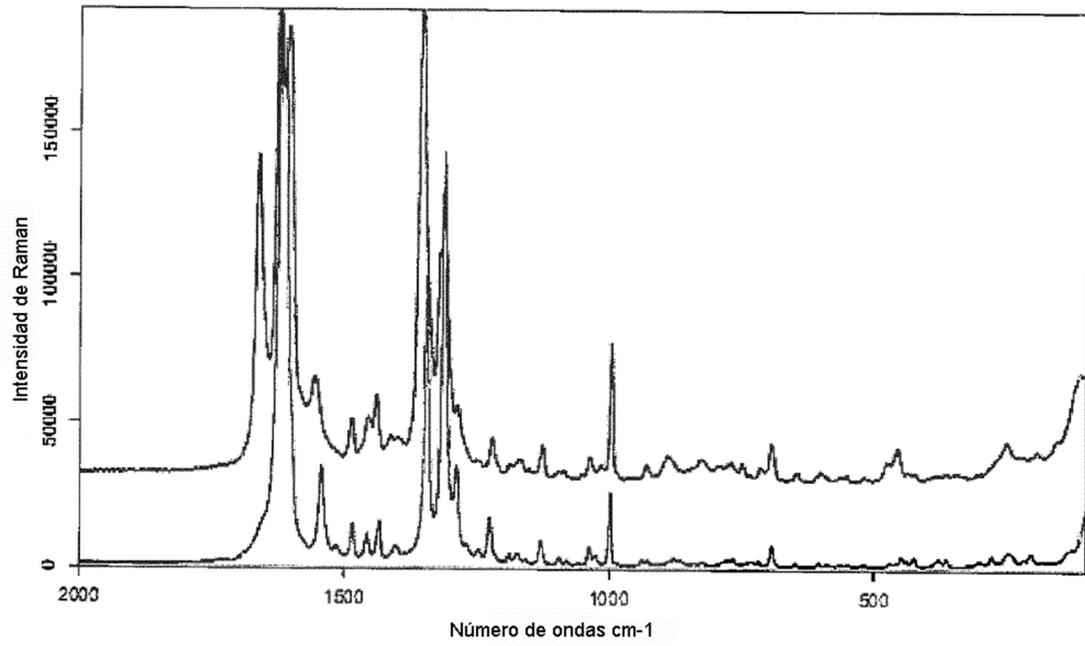


Fig. 4:

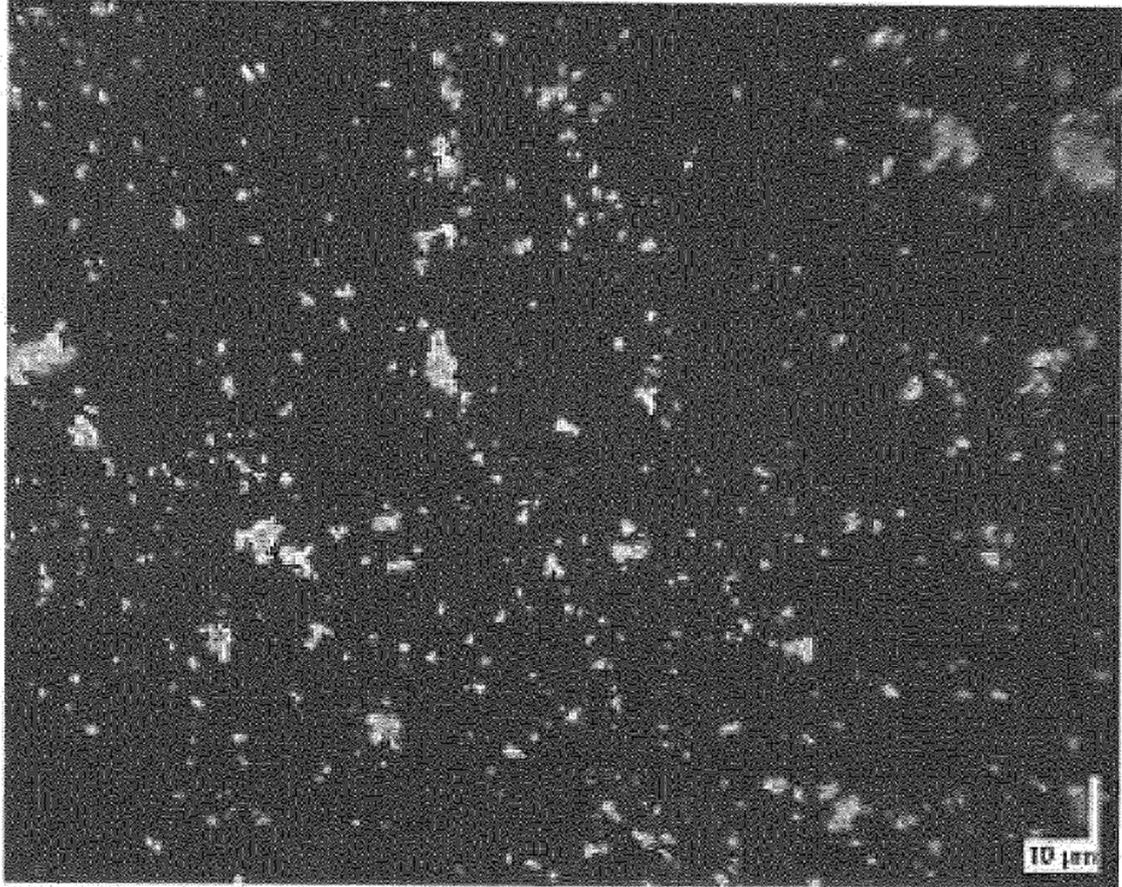


Fig. 5:

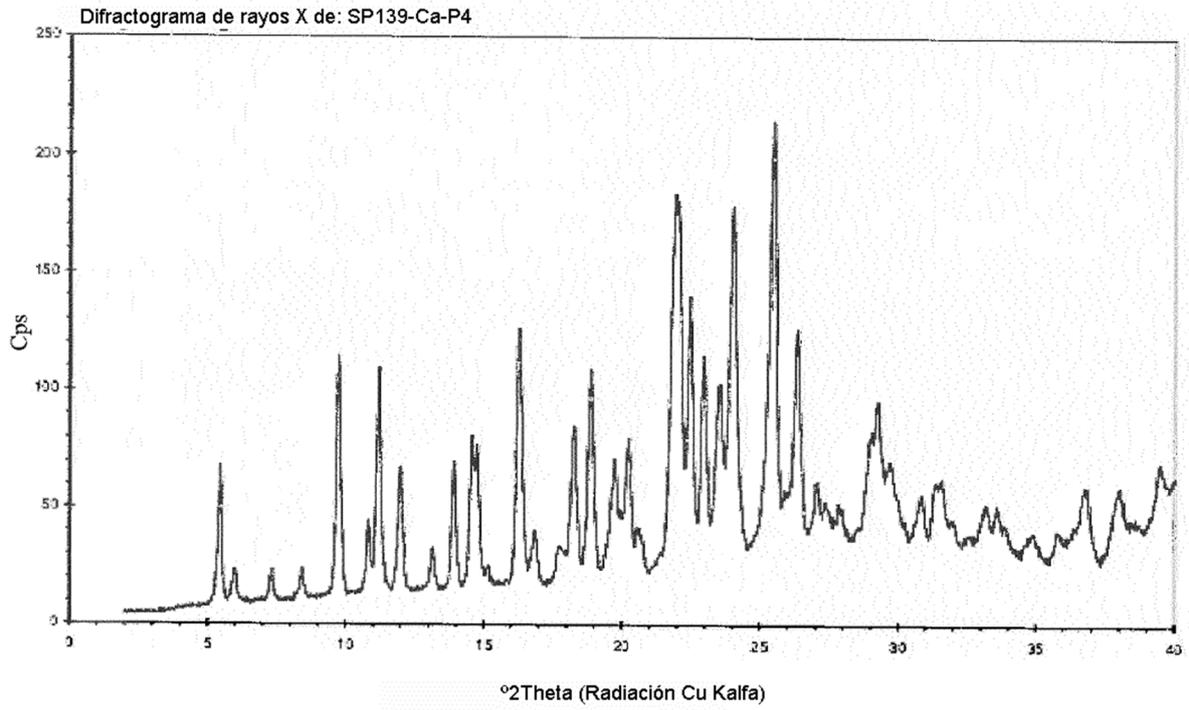


Fig. 6:

